

Cry39A の ORF2-39A および loop1 が蚊特異的殺虫活性に与える影響

応用分子生物学講座 応用分子昆虫学分野
小松優太

Bacillus thuringiensis (*Bt*) subsp. *aizawai* Bun1-14 株由来の Cry39A は、伝染病媒介蚊類の防除資材として利用されている *B. thuringiensis* subsp. *israelensis* 由来の Cry4A や Cry4B よりも、マラリア原虫を媒介するハマダラカの幼虫に対して強い殺虫活性を示す。Cry39A のハマダラカ幼虫に対する特異的殺虫活性のメカニズムを解明し、強力な殺虫活性を示す要因を明らかにすることで、*Bt* 製剤を利用したより効率的なハマダラカ防除を可能にすると考えられる。本研究では Cry39A のハマダラカに対する特異的殺虫活性と、ORF2-39A および Domain II の loop 領域の関連性を調査した。

Cry39A は Cry4A のような 130 kDa 型 Cry タンパク質の N 末端側領域に相当する *cry39A* 遺伝子と、C 末端側領域に相当する *orf2-39A* 遺伝子の 2 つの遺伝子からなる Cry タンパク質である。まず、ORF2-39A がハマダラカに対する特異的殺虫活性に関与しているかを調査したが、130 kDa 型 Cry タンパク質の C 末端側領域が殺虫活性に直接関与していない (Chungjatupornchai *et al.*, 1988) のと同様、ORF2-39A は特異的殺虫活性には関与していないことが明らかになった。

Cry タンパク質は標的昆虫の中腸消化液に含まれるプロテアーゼによって、3 つの Domain からなる Cry トキシンとなる。3 つの Domain の中でも、特に Domain II の loop 領域は標的昆虫の中腸上皮細胞上のレセプターとの結合に関与し、Cry トキシンの特異的殺虫活性に果たす役割が大きいと考えられている。そこで、既知の Cry4Ba の立体構造をもとに、Cry39A トキシンの立体構造予測を行い、Domain II の 3 つの loop 領域を特定し、構成するアミノ酸配列を推定した。Domain II の loop 領域において、特に芳香環側鎖を持つアミノ酸がレセプターとの結合に重要な役割を果たしているという報告 (Jong *et al.*, 2009) をもとに、予測した立体構造を検証し、loop1 の頂点付近に存在する Y350 と Y352 に着目した。Cry39A[Y350A]、Cry39A[Y352A] および Cry39A[Y350A/Y352A] を作出し、殺虫活性試験を行ったところ、ハマダラカ幼虫に対する殺虫活性の低下が見られ、特に Cry39A[Y350A/Y352A] において殺虫活性は著しく低下していた。また、Cry39A[A351Y] では変異導入による殺虫活性の変化は見られなかったことから、loop1 の特異的殺虫活性には芳香環側鎖は少なくとも 2 つ必要で、その配置も重要な意味を持つことが示唆された。ハマダラカ幼虫に対しては弱い殺虫活性を示す Cry44A の loop1 のアミノ酸配列を Cry39A のものと入れ換えた Cry39A[44AL1] においても、ハマダラカ幼虫に対する殺虫活性の著しい低下が見られた。以上の結果より、Cry39A の Domain II の loop1 に存在する Y350、Y352 および loop1 の構造がハマダラカ幼虫に対する特異的殺虫活性に大きく関わっていることが示唆された。